

低温对杂交水稻及其亲本剑叶 77K 荧光的影响

李 平 王以柔 陈贻竹 刘鸿先(中国科学院华南植物研究所, 广州 510650)

Effect of Low Temperature of Chlorophyll Fluorescence at 77K of Flag Leaves in Hybrid Rice F₁ and Its Parents

LI Ping, WANG Yirou, CHEN Yizhu, LIU Hongxian

(South China Institute of Botany, Academia Sinica, Guangzhou 510650)

Abstract: Using three hybrid rice combinations Shanyou 63, Qingyouzao and Xiuyou 57 grown in field (natural condition) as material, effect of chilling (5°C) and light (210 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}\text{PFD}$) on chlorophyll fluorescence at 77K of flag leaves in hybrid rice F₁ and its parents were investigated. Results showed that the parameters of fluorescence, F_o, F_m and F_v were decreased by chilling treatment. The cold tolerance among three hybrid rice combinations could be reflected from variable fluorescence. The cold tolerance of F₁ hybrid rice was between that of male sterile line and restorer line. During chilling under low light F_o, F_m and F_v increased but F_v/F_m and F_v/F_o did not change. It was demonstrated that the chilling treatment with the lower light intensity had no significant effects on the efficiency of the primary conversion of the light energy of PSII and the transport rate of the light energy of PSII as compared with that of under growing condition. So, the photoinhibition was not occurred in the photochemical reaction of photosynthesis. Based on this result, the flag leaves taken from the field under strong light intensity, under 5°C and 210 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}\text{PFD}$ treatment, light 210 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}\text{PFD}$ might facilitate the adaptation of rice to chilling so that the degree of injury of photochemical process in leaves was reduced.

Key words: Chilling; Flag leaf; Hybrid rice; Light; 77K fluorescence

摘 要: 以大田栽培的三套杂交水稻组合汕优 63, 青优早和秀优 57 为材料, 研究了低温 (5°C) 与光照 (210 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}\text{PFD}$) 对杂交水稻 F₁ 及其亲本剑叶 77K 荧光的影响。结果表明: 低温引起 77K 荧光参数 F_o, F_m, F_v 下降, 可变荧光 F_v 的变化能反映三套杂交水稻组合间的抗冷性的差异。F₁ 的抗冷性居父母本之间。同时发现, 在低光照下低温处理引起 F_o, F_m, F_v 上升, 但未改变 F_v/F_m, F_v/F_o 的比值。证明在低温下, 低于水稻生长光强 210 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}\text{PFD}$ 的光照对 PSII 的最初光能转化效率和光能传递速率影响不大, 即对光合作用的光化学过程未产生光抑制现象。由此可见, 取样于田间强光照下的水稻剑叶, 在 5°C 和 210 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}\text{PFD}$ 处理下, 210 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}\text{PFD}$ 可能有利于水稻对低温的适应, 从而减轻叶片的光化学过程的伤害程度。

关键词: 杂交水稻; 剑叶; 低温; 光照; 77K 荧光

光合器官叶绿素荧光的测量和光合作用的协同研究, 可揭示植物光合作用的光化学过程与非光化学过程的变化。这对于了解环

境因子 (低温与光) 对植物光系统的伤害机

1991 年 6 月 4 日收到。Received June 4, 1991

注: 本研究为国家自然科学基金资助课题。

理找到了有说服力的证据^(7,4)。近年来许多研究者利用叶绿素a荧光技术探讨植物光抑制的本质, Demmig and Winter (1988) 采用室温荧光分析了菠菜光合作用的非光化学猝灭过程对过剩光的反应⁽⁵⁾, Ögren and Öquist (1984) 利用 77K 荧光分析了光抑制对 *Lemna gibba* L. 光合作用最初光化学过程的影响⁽¹¹⁾。我们曾报道了低温对杂交水稻及其亲本剑叶光合作用有抑制作用, 但未探讨其抑制部位⁽¹⁾。低温与光对全光照下生长的杂交水稻剑叶叶绿素荧光的影响报道尚不多⁽³⁾。为此, 本试验以大田栽培的三个杂交水稻及其亲本孕穗期剑叶为材料, 探讨低温和光照对 77K 荧光的影响。以便了解杂交水稻子代的抗冷性与亲本的关系以及对光合作用的抑制过程中低温与光的相互作用。

材料与方法

(一) 试验材料

杂交水稻组合为汕优 63 (珍汕 97A × 明恢 63), 青优早 (青四矮 A × 红梅早), 秀优 57 (秀 A × C57)。前两个组合为籼型杂交水稻, 第三个组合为粳型杂交水稻。种子由本所遗传研究室杂优水稻组提供。

种子浸种萌发后播于盆中育秧, 然后移栽于大田, 一般肥水管理, 待孕穗后期取主茎剑叶进行低温处理。

(二) 低温处理

将剑叶中部剪切成 3~4cm 片段, 放入盛有水的培养皿中, 加盖置于温度调控箱 5℃ 黑暗和 5℃ + 光照 210 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ PFD 处理 1 d, 2 d, 3 d, 然后分别取样测定 77K 荧光, 对照于处理前测定。

(三) 77K 荧光测定

采用澳大利亚国立大学组装的 77K 荧光仪 (77K fluore-meter) 测定, 样品在液态氮蓝光 (470 nm, 1 $\mu\text{EM}^{-2}\text{s}^{-1}$) 激发, 在 692 nm 处检测它的 PS II 的荧光发射。每个处理重复 2~3 次, 每次测定样品 3 次

重复。样品打成圆片装管放入冰箱黑暗预冷 10 min, 然后在液态氮下进行测定。

结果

(一) 低温对杂交水稻组合 77K 荧光的影响

1. 低温处理期间杂交水稻汕优 63 的 77K 荧光参数的变化

以大田栽培的汕优 63 为材料, 取剑叶片段于黑暗条件下进行不同时间的低温处理。如图 1 所示, 低温处理第 1~2 天, F_0, F_m, F_v 下降明显, 在处理至第 3 天, 下降较少。根据荧光诱导动力学理论, F_0 是在很弱的激发光照射后, 由受激的 PS II 天线色素发射的, 因此, F_0 的产值与光合作用的光反应无关。已知 F_0 水平首先取决于 PS II 天线色素内激发子的最初密度, 其次取决于天线色素之间及它至 PS II 反应中心之间激发能传递机率的结构状态, 而 PS II 天线色素水平的改变受环境胁迫影响^(8,16)。我们在测定中所用的激发光强度是固定的, F_0 实际上是与叶片的叶绿素含量有关。在黑暗下低温处理引起 F_0 的下降, 可能是由于低温引起叶绿体的色素系统的破坏所

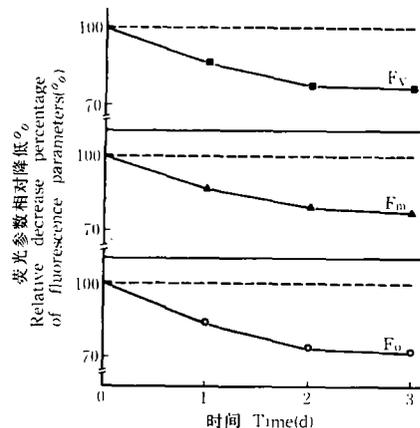


图1 低温处理期间杂交水稻汕优63剑叶77K荧光参数的变化

Fig1. Changes of the parameters of fluorescence at 77K of flag leaves in hybrid rice Shanyou 63 during chilling (5℃) treatment

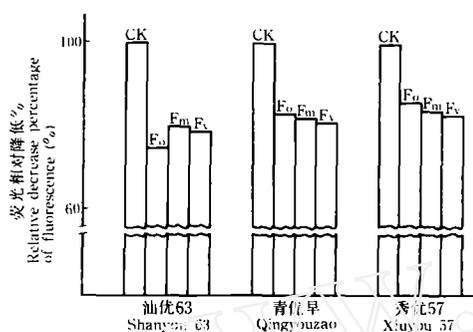


图 2 低温 (5°C) 对不同杂交水稻组合剑叶 77K 荧光的影响

Fig. 2. Effects of chilling (5°C) on fluorescence at 77K of flag leaves in different hybrid combinations

致。荧光从 F_0 的升高通常被认为是反映电子受体 Q_A 的还原, 当 Q_A 经由电子传递链的重新氧化被阻断时, 最大荧光水平达到 F_m 。荧光在 F_0 的基础上上升到荧光最大值 F_m , 从 F_0 上升的这部分荧光为可变荧光 F_v 。 F_v 的大小及其变化过程与 PS II 的原初反应过程, 特别是与 PS II 的原初电子受体 Q_A 的氧化还原电位的高低紧密相关。因此, 它可反映反应中心的活性大小, 可代表 PS II 的潜在活性。低温引起 F_v 下降, 表明 PS II 反应中心活性降低。这表明在高光强下生长的水稻转移到 5°C 下处理时, PS II 活性受到抑制, 因而 77K 荧光对低温反应是敏感的。

2. 低温对不同杂交水稻组合 77K 荧光的影响

杂交水稻组合汕优 63、青优早、秀优 57 的耐冷性是不同的, 表现在根系、叶片、整株幼苗对低温反应的敏感性是汕优 63 > 青优早 > 秀优 57⁽²⁾。本试验亦证明不同抗冷力的杂交水稻剑叶的 77K 荧光特性对低温反应的敏感性呈现不同, 剑叶经黑暗低温处理 2 d 后, 与对照比较, F_0 , F_m , F_v 均呈现下降现象, 对冷敏感的汕优 63 其下降值在 20% 以上, 而对冷不敏感的青优

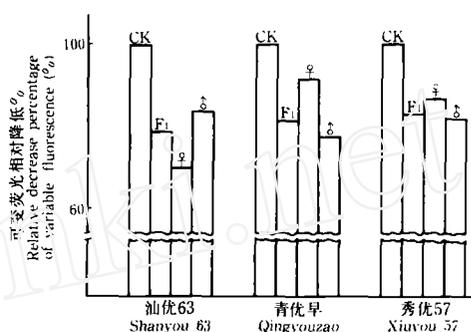


图 3 低温 (5°C) 对不同杂交水稻及其亲本剑叶 77K 可变荧光的影响

Fig. 3. Effects of chilling (5°C) on the variable fluorescence at 77K of flag leaves in different hybrid rice F_1 and its parents

早和抗冷的秀优 57, 其下降值仅在 15% 左右 (图 2)。表明黑暗低温处理后的 77K 荧光的变化亦可区分不同杂交水稻组合抗冷性的差异。

3. 低温处理后杂交水稻与亲本 77K 荧光特性的比较

为阐明杂交水稻 F_1 的抗冷性与其亲本的关系, 分别测定了三套杂交水稻组合 F_1 及其父母本剑叶经 2 d 低温诱导的 77K 荧光的变化。低温胁迫后, 三套组合的 F_1 和父母本的 F_v 均呈现下降趋势, 并且下降幅度与水稻品种的抗冷性相关。不抗冷的汕优 63 比抗冷的青优早、秀优 57 下降幅度较大, 从其亲本来看, 对低温敏感的汕优 63, 其母本比父本下降显著, 较抗冷的青优早, 其父本比母本下降显著, 抗冷的秀优 57, 父母本均下降较小。但从 F_v 的相对下降值看, F_1 居其父母本之间, 表明 F_1 的抗冷性未呈现超亲优势 (图 3)。

(二) 低温下光照对杂交水稻组合 77K 荧光的影响

为了解低温与光照对全光照下生长的杂交水稻剑叶 77K 荧光的影响, 我们在低温处理的同时, 给予 $210 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ PFD 的光照。结果发现与黑暗低温处理的反应不

表1 光照低温处理对杂交水稻及其亲本剑叶 Fv/Fm, Fv/Fo 比值的影响

Table 1. Effects of chilling with light treatment on the Fv/Fm and Fv/Fo ratios of flag leaves in hybrid rice F₁ and its parents (5°C and 210 μmol m⁻²s⁻¹ PFD)

组合及亲本 Combination and its parents	光照低温处理 Chilling treatment under light					
	Fv/Fm			Fv/Fo		
	对照 Control	低温 Chilling	相对百分数 Relative percentage(%)	对照 Control	低温 Chilling	相对百分数 Relative percentage(%)
汕优 63 Shanyou 63	0.798	0.793	99.4	3.86	3.79	98.1
珍汕 97 A.Zhenshan 97A	0.807	0.800	99.1	4.07	3.96	97.3
明恢 63 Minghui 63	0.801	0.795	99.3	3.93	3.87	98.5
青优早 Qingyouzao	0.803	0.795	99.0	4.02	3.95	98.3
青四矮 A Qingsiai A	0.805	0.798	99.1	4.00	3.89	97.2
红梅早 Hongmeizao	0.802	0.793	98.9	3.94	3.85	97.7
秀优 57 Xiuyou57	0.809	0.805	99.5	4.08	4.04	99.0
秀 A XiuA	0.800	0.797	99.6	3.90	3.84	98.5
C57	0.807	0.804	99.6	3.97	3.92	98.7

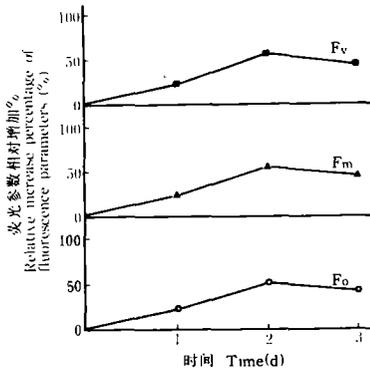


图4 在光照下低温对杂交水稻汕优63剑叶77K荧光参数的影响

Fig. 4. Effects of chilling treatment under light on the parameters of fluorescence at 77K of flag leaves in hybrid rice Shanyou 63(5°C and 210 μmol m⁻²s⁻¹ PFD)

同。在光照下低温处理的第1~2天, F_o, F_m, F_v均逐渐升高, 处理至第3天, 分别略有下降, 但仍高于对照水平(图4)。光

照低温引起 F_m, F_v 升高, 但 F_v/F_m, F_v/F_o 的比值未发生改变(表1), 表明在 5°C 下 210 μmol m⁻²s⁻¹ PFD 对叶片 PSII 的最初光化学过程未产生光抑制现象, 这可能是水稻对低温的一种适应性反应。

讨论

叶绿素作为光系统的内部荧光探针, 在植物叶片或藻类细胞中以非常复杂的形式反映荧光的产量, 这种变化直接或间接与光合作用的过程有关^[10,15], 并且明显地受环境胁迫的影响^[4]。本试验结果表明: 杂交水稻经低温处理后, 77K 荧光参数 F_o, F_m, F_v 均发生下降, 下降的幅度可反映杂交水稻组合间抗冷性的差异(图2), 可变荧光 F_v 的变化亦反映了杂交水稻组合 F₁ 和其亲本之间抗冷性的关系, 即 F₁ 的抗冷性居父母本之中, 未表现超亲现象(图

3)。我们曾经报道低温引起杂交水稻光合放 O_2 作用的降低, 并且反映杂交水稻组合间的抗冷性差异。亦表明在冷敏感的组合低温不仅影响叶绿体的光化学过程, 而且亦抑制了光合暗反应的酶的活性, 抗冷的组合低温引起 PSII 量子效率的降低, 而对光合暗反应的酶系统影响不大⁽⁹⁾。本试验分析低温对不同杂交水稻及其亲本剑叶 77K 荧光的影响与光合作用的结果一致⁽¹⁾。Papageogiou (1975) 通过观察植物体内光合器官 Chl a 荧光的变化, 获得许多有关植物光合作用的信息⁽¹²⁾。我们的研究结果与 Papageogiou 的观点相符合, 因此, 我们认为低温诱导的 77K 荧光的变化亦可反映低温对植物光合作用过程的影响, 通过检测 Fv 的变化, 结合其他光合功能参数的研究, 可反映杂交水稻组合的抗冷性的差异, 对杂交水稻的抗冷性育种可能有应用价值。

近年来一些研究表明: 许多植物种类的叶片暴露于高光下引起了光合作用的抑制, 阴生的或低光培养的植物, 在低温下中等光强就能产生光抑制现象^(14,15)。本试验发现田间全光照下生长的水稻剑叶, 在 5℃ 下 77K 荧光参数有下降现象, 而在 5℃ 处理期间给予 $210 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ PFD 时却引起 77K 荧光的上升, 但未改变 Fv / Fm, Fv / Fo 的比值(图 4, 表 1), 表明在 5℃ 下 $210 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ PFD 对水稻剑叶 PSII 的原初光化效率和光能传递速率影响不大。只有当大量能量进入光系统而不能较长地以一种有序的方式散失时, 光抑制产生⁽⁶⁾。本研究水稻从大田全光照下转移到显著低于生长光照的低温下处理时, 由于温度降低, 光合作用减弱, 同时由于光照明显减弱, 叶绿体捕获的光能也必然减少, 可能使光能捕获与光能利用产生了新的平衡, 使光能传递和光能转化能正常运转, 以致在光合器官内没有过剩能累积, 因而在 5℃ 和 $210 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 下并不引起光化学过程的抑制。而 5℃ 黑暗处理, 由于没有适当的光照, 叶绿

体的结构状态和色素的合成会受到一定程度的影响⁽¹³⁾, 因而引起 77K 荧光的降低。由此可以认为, 本试验条件引起的水稻光化学过程伤害, 低温是主要因子。在 5℃ 下 $210 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ PFD 可能有利于水稻对低温的适应, 从而起一种缓解伤害的作用。但是, 多个环境因子对植物光合作用的影响机理是十分复杂的。低温和光的胁迫强度不同, 持续时间及其组合不同, 对植物的伤害程度亦不同, 也就有可能存在不同的冷害机理。因此, 在植物冷害的发生过程中, 低温与光的相互作用的机理值得深入研究。

参考文献

- (1) 李平, 刘鸿先, 王以柔等. 低温对杂交水稻及其亲本三系始穗期旗叶光合作用的影响. 植物学报, 1990, 32 (6): 456~464.
- (2) 李平, 王以柔, 刘鸿先. 几种杂交水稻及其亲本三系幼苗抗冷特性的比较. 中国水稻科学, 1990, 4 (1): 27~32.
- (3) 陈贻竹, 刘鸿先, 郭俊彦等. 用叶绿素荧光的方法估价水稻的耐冷力. 中国科学院华南植物研究所集刊, 1990, 6: 122~131.
- (4) Bjorkman O. Low-temperature chlorophyll fluorescence in leaves and its relationship to photon yield of photosynthesis in photoinhibition. In Photoinhibition, (Eds. D J Kyle, C B Osmond and C J Arntzen) Topics in photosynthesis, 1987, Vol. 9, 123~144.
- (5) Demming B and Winter K. Characterisation of three component of Non-photochemical fluorescence quenching and their response to photoinhibition. Aust J Plant Physiol, 1988, 15: 163~177.
- (6) Eleland R E. Molecular events of photoinhibition in the reaction centre of photosystem II. Aust J Plant Physiol, 1988, 15: 135~150.
- (7) Greer D H, Berry J A and Bjorkman O. Photoinhibition of photosynthesis in intact bean leaves: role of light and temperature and require-

- ment for chloroplast-protein synthesis during recovery. *Planta*, 1986, 168: 253~260.
- (8) Krause G H and Weis E Chlorophyll fluorescence as a tool in plant physiology. II. Interpretation of fluorescence signals. *Photosynthesis Research*, 1984, 5: 139~157.
- (9) Martin B and D R Ort. Insensitivity of wateroxidation and photosystem II activity in tomato to chilling temperatures. *Plant Physiol*, 1982, 70: 689~694.
- (10) Ögren E, Öquist G and Hailgren J E. Photoinhibition of photosynthesis in *Lemna gibba* as induced by the interaction between light and temperature. I. Photosynthesis *in vivo*. *Physiol Plant*, 1984, 62: 181~186.
- (11) Ögren E and Öquist G. Photoinhibition of photosynthesis in *Lemna gibba* as induced by the interaction between light and temperature. III. Chlorophyll fluorescence at 77K. *Physiol Plant*, 1984, 62: 193~200.
- (12) Papageorgiou G. Chlorophyll fluorescence: An intrinsic probe of photosynthesis. In Govindjee (ed) *Bioenergetics of Photosynthesis*. 1975. Academic Press, New York, P320~366.
- (13) Park I K, and Tsunoda S. Effect of low temperature on chloroplast structure in cultivars of rice. *Plant Cell Physiol*, 1979, 20 (17): 1449~1453.
- (14) Powles S B, Berry J A and Bjorkman O. Interaction between light and chilling temperature on the inhibition of photosynthesis in chilling-sensitive plants. *Plant Cell Environ*, 1983, 6: 117~123.
- (15) Powles S B. Photoinhibition of photosynthesis induced by visible light. *Ann Rev Plant Physiol*, 1984, 35: 15~44.
- (16) Schreiber U and Armond P A. Heat-induced change of chlorophyll fluorescence in isolated chloroplasts and related heat-damage at the pigment level. *Biochim Biophys Acta*, 1978, 502: 138~151.